Aus dem Institut für Rechtsmedizin

der Universität Düsseldorf

(Direktor: Prof.Dr.H.Schweitzer)

ÜBER DIE Gm-, Km-, EsD-, SEP - BESTIMMUNGEN AN DER ZAHNPULPA MENSCHLICHER LEICHEN

Inaugural - Dissertation zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Zahnmedizin

Vorgelegt von

LUZIE BAUER

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536505_0110

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

der Universität Düsseldorf

(Direktor: Prof.Dr.H.Schweitzer)

ÜBER DIE Gm-, Km-, EsD-, SEP - BESTIMMUNGEN AN DER ZAHNPULPA MENSCHLICHER LEICHEN

Inaugural - Dissertation zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Zahnmedizin

Vorgelegt von

LUZIE BAUER

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof.Dr. Arnold

Referent
gez.: Prof.Dr. Schweitzer

Korreferent
gez.: Prof.Dr. Schübel

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	4
A. Bestimmung der Blutgruppenmerkmale an menschlichen Zähnen	4
B. Immunglobulin-Systeme Gm und Km	6
C. Isoenzym-System Saure Erythrozytenphosphatase (SEP)	12
D. Isoenzym-System Esterase D (EsD)	15
II. Material und Methode	17
A. Allgemeines	17
B. Materialgewinnung	17
C. Agglutinationshemmtest zur Bestimmung der Gm- und Km-Allotypen	19
D. Darstellung der EsD-Enzympolymorphismen mit der Stärkegelelektrophorese	2o
E. Bestimmung der SEP mit der Celluloseacetatfolien-Elektrophorese	23
III. Ergebnisse	25
A. Nachweis von Gm- und Km- Allotypen	25
B. Nachweis der Isoenzyme der EsD	27
C. Nachweis der Isoenzyme der SEP	29
D. Kasuistik	3o
IV. Diskussion	34
A. Besonderheiten bei Bestimmung der Blutgruppenmerkmale an menschlicher Zahnpulpa	34
B. Gm- und Km- Allotypen in der Zahnpulpa	36
C. Die Isoenzyme der EsD und SEP in der Pulpa	37
V. Zusammenfassung	41
VI. Literatur	42

I. Einleitung

A. Bestimmung der Blutgruppenmerkmale an menschlichen Zähnen

Durch die genetisch individuelle Prägung menschlicher Körpergewebe gilt für die Rechtsmedizin festzustellen, welche zur Identifizierung einer Person geeigneten Blutmerkmale auch am Gewebe erfaßbar sind, so daß man - z.B. bei Gewaltverbrechen oder Katastrophen Leichenteile als zusammengehörig erkennen und sie einer bestimmten Person zuordnen kann, wenn deren Blutmerkmale bekannt sind. Gelegentlich ist auch die Zuordnung von Leichenteilen zu Blutspuren zu klären.
Die Identifizierung von Leichen anhand von Blutgruppenmerkmalen stößt in der forensischen Praxis immer dann auf Schwierigkeiten, wenn starke Fäulnisveränderungen vorliegen. Um eine genügend gesicherte Identifizierung einer Leiche oder eines Leichenteiles durchzuführen, sind oft die Bestimmungen mehrerer Blutgruppenmerkmale notwendig.

Der menschliche Zahn zeigt gegenüber äußeren Einflüssen, dank seiner Hartgewebsstrukturen, eine außerordentliche Widerstandskraft und kann somit bei hochgradig verstümmelten Leichen oder Kieferteilen zur Identifizierung Unbekannter herangezogen werden (PILZ, 1974).
Die ersten Versuche Blutgruppensubstanzen an menschlichen Zahnhartgeweben darzustellen hat 1937 KREHER unternommen. Er konnte jedoch mit Hilfe der Absorptionstechnik keine spezifischen Ergebnisse erzielen. KRÄMER et al. (1962) meinten, daß die festgestellten Hemmungseffekte keinen gruppenspezifischen Charakter haben können. Zweifel an dem Vorhandensein und der Nachweismöglichkeit von Blutgruppensubstanzen in Zähnen äußerten PROKOP und UHLENBRUCK (1966). Erst HEIFER und SADIGH (1969) ist es gelungen, mit Hilfe der Absorptions- Elutions-Technik die A-und B-

Substanzen in menschlichen Zahnhartgeweben nachzuweisen. Die ersten Isoenzymuntersuchungen an Zahnpulpa und Dentin haben TUROWSKA und TRELA (1977) durchgeführt. Sie konnten an der Pulpa AK-, ADA- und PGM- Isoenzyme nachweisen, was am Dentin jedoch nicht gelang. Eine umfangreiche Studie zu diesem Problemkreis führte im selben Jahr PETERSEN durch. Er untersuchte an Pulpen fäulnisveränderter Leichen die Isoenzyme PGM_1, 6-PGD, AK, ADA sowie ABH- und MN -Substanzen. Die Bestimmung der Phänotypen der Systeme PGM_1, ADA und 6-PGD mit der Stärkegelelektrophorese war in allen Fällen möglich. Zum Nachweis der H- und MN- Substanzen erwies sich die Mischagglutinationstechnik als nicht geeignet. Die Bestimmung der ABH- und MN-Substanzen ist jedoch mit der Absorbtions-Elutions-Methode grundsätzlich möglich. Bei der PGM_1 und ADA konnten gewebsspezifische Isoenzyme nachgewiesen werden. Die Enzymaktivität der AK reichte nur in 6o % der Fälle für eine Anfärbbarkeit nach Stärkegelelektrophorese aus. PETERSEN berichtet in seiner Arbeit auch über 3 Fälle, in denen die Bestimmung genetischer Merkmale in der Zahnpulpa mit zur Sicherung der Identität stark fäulnisveränderter Leichen herangezogen wurde.

Zur Identifizierung einer Leiche ist es äußerst wichtig, möglichst viele aussagekräftige (d.h. polymorphe) Systeme untersuchen zu können, die unabhängig voneinander vererbt werden. Zu diesen gehören auch Immunglobulinsysteme Gm und Km sowie die EsD- und SEP-Isoenzymsysteme.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es festzustellen, ob die Zahnpulpa die oben genannten Voraussetzungen erfüllt.

B. Immunglobulin-Systeme Gm und Km

Die Klassifizierung der Immunglobuline erfolgt nach drei Formen ihrer Heterogenität: Idiotypie, Isotypie und Allotypie.

Die Grundstruktur jedes Ig-Moleküls besteht aus einem Paar identischer schwerer Ketten (H-Ketten) und einem Paar identischer leichter Ketten (L-Ketten), die durch Disulfidbrücken verbunden sind. Beide Ketten haben einen konstanten (C) und einen variablen (V) Teil. Die L-Ketten können durch Unterschiede in der Primärstruktur ihres C-Teils in Kappa- und Lambda-Typen eingeteilt werden.

Idiotypen sind charakterisiert durch die außerordentlich vielfältigen Strukturvarianten des variablen Teils der Ketten. Die Idiotypie bestimmt die Antikörperspezifität der Moleküle. Im Zusammenhang mit der Blutgruppenserologie haben die Idiotypen bisher keine Bedeutung.

Isotypie sind Varianten, die im Serum jedes Individuums einer Species vorhanden sind. Beim Menschen sind z.Zt. 5 Klassen und mehrere Subklassen bekannt.

Allotypen sind genetische Marker. Unterschiedliche Allele bedingen Varianten der Primärstruktur im C-Teil der Ketten. Es handelt sich um einen genetischen Polymorphismus, wodurch nicht jedes Individuum alle möglichen Strukturvarianten besitzt, sondern nur diejenigen, die es von seinen Eltern geerbt hat. Der Gm-Polymorphismus, als genetischer Marker der γ-Ketten, ist nur am IgG-Molekül nachweisbar.

1956 entdeckten GRUBB und LAURELL einen Hemmfaktor der Gammaglobulinfraktion im Serum und nannten ihn Gm (a). In den folgenden Jahren wurden weitere Gm-Merkmale entdeckt (HARBOE und LUNDEVALL,1958; STEINBERG, GILES und STAUFFER,196o; ROPARTZ, RIVAT und ROUSSEAU,1963 ; u.a.)

Alle bis heute bekannten Allotypen sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. Genetische Marker der Immunglobuline
(nach WHO-Empfehlung, Rouen 1974)

a) z.Z. bestimmbare Allotypen

System	Lokalisation	Nomenklatur alphamerisch	numerisch	Originalbezeichnung
Gm	IgG_1FcCH3	G1m(a)	G1m(1)	Gm(a)
	FcCH3	(x)	(2)	(x)
	FdCH1	(f)	(3)	(b^w),(b^2),(f)
	FdCH1	(z)	(17)	(z)
	IgG_2FcCH2	G2m(n)	G2m(23)	Gm(n)
	IgG_3FcCH3	G3m(b^o)	G3m(11)	Gm(b^β),(bO)
	FcCH2	(b^1)	(5)	(b),(b1),(b^r)
	FcCH3	(b^3)	(13)	(b3),(Bet)
	FcCH2	(b^4)	(14)	(b4)
	FcCH3	(b^5)	(1o)	(b^a),(b^5)
	FcCH3	(c^3)	(6)	Gm-like,(c),(c3)Gm-like
	FcCH3	(c^5)	(24)	Gm-like,(c),(c5)C3-C5
	FcCH2	(g)	(21)	Gm(g)
	FcCH2	(s)	(15)	(s)
	FcCH2	(t)	(16)	(t)
	FcCH2	(u)	(26)	(Pa)
	FcCH3	(v)	(27)	(Ray)
Am	IgA_2	A2m(1)	A2m(1)	Am(1),Am_2(2+)
		(2)	(2)	
Km	KFabCL	Km(1)	Km(1)	Inv, Inv (1)
	von IgG,	(2)	(2)	(lower case 1)
	IgM,IgA u.			(a)
	Bence-Jones-			
	Proteine	(3)	(3)	(b)

b) Wegen Serummangel nicht mehr bestimmbare Merkmale

Bezeichnung WHO, 1965

System	Lokalisation	Nomenklatur alphamerisch	numerisch	Originalbezeichnung
Gm		Gm(7)		Gm(r)
		(9)		(p)
		(18)		R02
		(19)		R03
		(2o)		Gm(2o)
		(22)		(y)

Gm(9) und Gm(22) sind vermutlich sog. "Non-Marker"

Aus: HENKE, BASLER, van LOGHEM, de LANGE (1981)

Familienuntersuchungen (ROPARTZ und Mitarb. 1961) und populationsgenetische Daten ergaben, daß der Faktor Km unabhängig von den Gm-Determinanten vererbt wird. Es konnte ermittelt werden, daß der Km-Faktor (früher InV) ein genetischer Marker der leichten Ketten vom κ-Typus ist (GROSS u.Mitarb. 1962; TERRY u.Mitarb. 1965; HILSCHMANN und CRAIG 1965).
Seit der Entdeckung des ersten Gm-Merkmals, wurde immer wieder die große Stabilität der Gm-Allotypen gegenüber äußeren Einflüssen hervorgehoben, so daß die Gm-Bestimmung an Blutspuren schnelle Anwendung in der gerichtlichen Medizin gefunden hat (PLANQUES et al.,1961 ; FÜNFHAUSEN und SAGAN, 1961; FÜNFHAUSEN et al., 1962; NIELSEN und HENNIGSEN, 1963).
Die Stabilität der Gm-Allotypen gegenüber Hitze und Kälte haben schon GRUBB und LAURELL (1956) betont (auch FÜNFHAUSEN et al., 1962; KHALAP et al., 1976).

Der Anteil des IgG macht etwa 85 % (BENDER,1975) der gesamten Immunglobuline im Serum aus, so daß sich selbst kleinste Spurenmengen mit Hilfe des Agglutinationshemmtestes nachweisen lassen. Es ist eine hochempfindliche Methode (ALEPA und STEINBERG, 1964),die einen Gm-Nachweis selbst bei geringsten Serum-IgG-Konzentrationen gestattet.

GÖRTZ (1969) fand an experimentellen Spuren, daß lediglich o,1 mg Trockenblut notwendig ist, um Gm(1) zu bestimmen. Nach PROKOP und GÖHLER (1976) sollen zum Gm-Nachweis selbst o,ooo4 mg Immunglobuline ausreichen.

Die Hemmfähigkeit wird jedoch durch Feuchtigkeit über einen längeren Zeitraum leicht vermindert (NIELSEN und HENNIGSEN, 1963; KHALAP et al., 1976).

Chemische Einflüsse, die eine Aufspaltung des Ig-Moleküls bewirken, (z.B. Pepsin) führen zum Verlust der serologischen Bestimmbarkeit (GRUBB, 1956; GRUBB, 197o).

Es bestehen auch Stabilitätsunterschiede unter den einzelnen Allotypen (FRIEDRICH und OEPEN, 1978) z.B. ist G3m(21) sensibler

gegenüber Hitze, UV-Licht und Feuchtigkeit, als G3m(5).

Gm-Faktoren wurden mehrfach an alten Blutspuren untersucht und beschrieben. FÜNFHAUSEN et al., (1962) konnte an ein Jahr alten Blutspuren keine Gm-Merkmale nachweisen. GÖRTZ (1969) konnte jedoch noch an 1o - 15 Jahre alten Spuren einen Gm-Nachweis erbringen. HOSTE et al., (1978) berichteten über Gm- und Km-Merkmale, die sie an 33 Jahre alten Blutspuren fanden. Untersuchungen an 215 und 255 Jahre alten Schriftstücken (SMERLING, 1978; HENKE, 198o) führten kürzlich auch zu einer eindeutigen Gm- und Km-Allotypenbestimmung.

Über den Nachweis von Blutgruppensubstanzen in menschlichen Geweben und Sekreten wurden mehrere Untersuchungen durchgeführt. 1962 berichtete KRÄMER über das Vorkommen von Gm(1)-Substanzen in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten. Die Befunde ungewaschener Gewebe haben ergeben, daß sowohl im frischen, als auch im mumifizierten Leichengewebe (Leber, Milz, Niere, Muskel) die erbliche Serumeigenschaft Gm(1) analog dem Blutbefund nachweisbar ist. In nichtkapillarisierten Geweben, wie Rippenknorpel, Cornea, Epithelschuppen, Haare und Fingernägel konnte er Gm(1) nicht nachweisen. Bei den untersuchten extravasalen Körperflüssigkeiten zeigten Speichel, Magen-und Duodenalsaft, Sperma, Liquor, Urin, Augenkammerwasser und Muttermilch keine Gm(1)-Substanzen. Nur die pathologisch veränderten Körperflüssigkeiten, wie Brandblasen, Ascites, Pleuraexudat, Urin und Liquor enthielten Gm(1).

Die unterschiedliche Bestimmbarkeit einzelner Gm-Merkmale zeigten Untersuchungen an Sperma-Spuren, die JORCH und OEPEN (1977) durchgeführt haben. Dabei stellten sie fest, daß die Merkmale Gm(1), Gm(2) und Gm(3) sicherer nachzuweisen sind, da sie auf IgG_1-Molekülen lokalisiert sind, die etwa 7o % der gesamten IgG-Fraktion ausmachen, als die Faktoren Gm(5) und Gm(21), die der Unterklasse IgG_3 angehören und nur 8 % der IgG-Fraktion ausmachen. Sie stellten auch fest, daß im Speichel keine Gm-, wohl aber Km-Merkmale nachweisbar sind.

PROKOP et al., (1971) fanden Gm(1)-Substanzen in Gallensteinen, entsprechend dem Serumtyp des Steinträgers.
An gewaschenen und ungewaschenen Geweben wie: Haut, Muskulatur, Milz, Niere wurden Gm- und Km-Bestimmungen durchgeführt (OEPEN, 1972). Es wurden dabei wesentlich mehr Fehler am gewaschenen Gewebe beobachtet, als am ungewaschenen. Demnach spielten dabei Fäulnisprodukte, die durch Waschen entfernt werden sollten, keine wesentliche Rolle.

Untersuchungen von KIRST und LANDES (1971) an 58 Tibiaproben zeigten 53 richtige und 5 falsche Befunde. Die Proben wurden über 9 - 12 Monate trocken gelagert. Ähnliche Resultate erreichten sie bei 9 Monate alten Rippenmarkproben. KIRST und Mitarb. (1979) untersuchten auch Körperflüssigkeiten wie: Tränenwasser, Speichel und Vestibularflüssigkeit. Nur in der Innenohrflüssigkeit konnte Gm(1)-Spezifität eindeutig bestimmt werden. Bei dem Tränenwasser und dem Speichel wurden neben Gm-spezifischen Befunden auch einige Fehlresultate beobachtet. Sie wiesen jedoch darauf hin, daß bei den Speicheluntersuchungen der Muzingehalt einen zusätzlich störenden Einfluß auf das Testergebnis haben konnte.
Um derartige Störungen zu vermeiden, wählten KIPPS et al. (1975) eine besondere Methode bei Speichel-und Spermauntersuchungen. Sie fällten die Schleimsubstanzen durch mehrmaliges Einfrieren aus und erst dann bestimmten sie an 1oo Speichel- und Spermaproben die Gm(1)- und Km(1)-Substanzen.

1977 untersuchten JORCH und OEPEN die Faktoren Gm(1,2,3,5,21) und Km(1) in menschlichen Sekreten: Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma. Sie stellten fest, daß im Sperma die Gm-und Km-Faktoren nachweisbar sind. Bei den Schweißproben fiel wegen des niedrigen Gehaltes an Immunglobulinen die Km-Bestimmung negativ aus. Dagegen kann Nasensekret bei Verunreinigungen sowohl an der Gm- als auch der Km-Reaktion teilnehmen. Zwei Gutachtenfälle zeigten, daß auch im Scheidensekret Km-und Gm-Merkmale nachweisbar sind, so daß ein Mischbild von Scheidensekret- und Spermamuster entstehen kann. JORCH und OEPEN betonten

nochmals in dieser Studie, wie nach den Erfahrungen an alten Blutproben und an Blutspuren zu erwarten war, daß sich die Gm-und Km-Merkmale auch an Sekretspuren als sehr stabil erwiesen. Speichelproben ergaben noch nach einer Lagerung von 5 Monaten bei Zimmertemperatur richtige Ergebnisse. An 7 Spermaproben konnten nach einer Lagerung von 2 Monaten nach Zimmertemperatur ebenfalls die früher erhobenen Gm-und Km-Befunde bestätigt werden.

SCHWERD und FEHRER (1979) konnten an 27 Speichelproben 23 mit den Blutproben übereinstimmenden Ergebnisse erbringen. An 37 Spermaproben haben sie 33 mal die Phänotypenübereinstimmung mit denen des Blutes feststellen können. Sie wiesen darauf hin, daß bei den Sperma-und Speichelproben offensichtlich die Materialmenge eine Rolle spielt.

1982 (HENKE, MÜLLER und SCHWEITZER) wurden Untersuchungen an menschlichen Cerumen durchgeführt. Es wurde festgestellt, daß neben ABH-Substanzen auch Gm-und Km-Eigenschaften entsprechend dem Phänotyp des jeweiligen Probanden bestimmt werden können. Während der Nachweis von ABH-Substanz am Cerumen vom (ABH)-Sekretorstatus abhängig zu sein scheint, ist dies beim Gm-und Km-Substanznachweis sicherlich nicht der Fall.

C. Isoenzym-System Saure Erythrozytenphosphatase (SEP)

Die Saure Erythrozytenphosphatase ist eine Phosphohydrolase und-transferase, deren Polymorphismus 1963 von HOPKINSON et al., entdeckt wurde. Diese Autoren konnten auch die Existenz verschiedener, genetisch bedingter Phänotypen der SEP nachweisen. Die Phänotypen zeigen neben unterschiedlichen elektrophoretischen Mustern auch eine Reihe von weiteren Unterschieden wie z.B. in der Enzymaktivität und ihrer Thermostabilität. Nach SPENCER und Mitarb. (1964) nimmt die durchschnittliche Aktivität der SEP in

der folgenden Phänotypenreihung zu: A-BA-CA-B-CB. Untersuchungen von LUFFMAN und HARRIS (1967) zeigten, daß hinsichtlich der Thermostabilität die Phänotypen A,B und AB eher denaturieren als CA und CB.
Entgegen früher vertretener Ansicht, wonach die SEP nur in den roten Blutzellen vorkommt, steht jetzt fest, daß dieses Enzym auch in verschiedenen Organen vorkommt (HARRIS et al.,1978).

SWALLOW und HARRIS (1972) bestimmten für die SEP - Isoenzyme der plazentaren sauren Phosphatase das Molekulargewicht und die Thermostabilität. Weiterhin konnten sie beobachten, daß mit der Lagerungszeit der Plazentaproben die elektrophoretische Mobilität der Enzyme verändert wird.
Über saure Phosphatasen in Embryonalgewebe haben JOHNSON u.Mitarb., (1972) berichtet. Nach ihnen nimmt die Enzymaktivität mit steigendem Gastationsalter zu. Untersuchungen an Hirngewebe wurden von TIMPERLEY und Mitarb., (1971) vorgenommen. Sie konnten in der Elektrophorese nur eine Bande nachweisen, die in ihrer Ausprägung nicht nach Gehirnareal oder Entwicklungsstadium variierte.
Auch Untersuchungen von REIMANN (1971) an verschiedenen Geweben zeigten unterschiedliche Bandenmuster. Die SEP, die als "Mimose unter den Enzymen" bezeichnet wird, zeigte bei Untersuchungen an Sperma keinen Polymorphismus auf, der dem Erythrozytentyp entsprach (OEPEN et al., 1971).

Bei der SEP-Typisierung aus Blutspuren und Leichenblut wird immer wieder auf die Transformationen der Phosphatase-Typen hingewiesen, die durch die äußeren Einflüsse bedingt sind (ZAJAC und GRUNBAUM, 1978).

Die SEP - Phänotypen und ihre schematische Darstellung sind aus der Tab.2 und der Abb.1 ersichtlich.

Genotyp	Phänotyp
acP^A/acP^A	A
acP^A/acP^B	BA
acP^B/acP^B	B
acP^A/acP^C	CA
acP^B/acP^C	CB
acP^C/acP^C	C

Tabelle 2. Die 6 Standardphänotypen mit entsprechenden Genotypen (aus "Humangenetic P.E.BECKER, 1975)

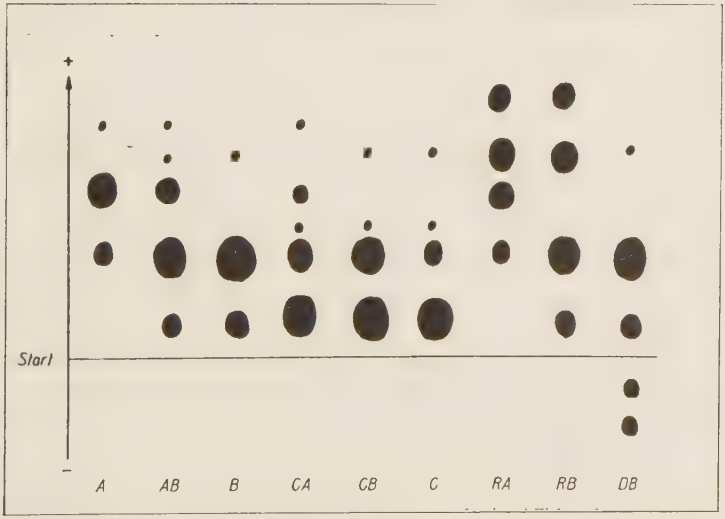

Abb. 1 Schematische Darstellung der SEP - Phänotypen (aus "Die menschlichen Blutgruppen" O.PROKOP und W.GÖHLER 1976)

D. Isoenzym-System Esterase D (EsD)

1973 wurde der Polymorphismus der Esterase D in menschlichen Erythrozyten entdeckt (HOPKINSON et al.).Das Enzym hydrolisiert 4-Methyl-Umbelliferryl-acetat und -butyrat und es kann durch diese Substratspezifität von den anderen Esterasen unterschieden werden. Mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese konnten 3 Phänotypen beobachtet werden: EsD (1), EsD (2-1) und EsD (2).

1974 beobachteten BENDER und FRANK einen neuen, offenbar sehr seltenen Phänotyp EsD (3-1). 1976 beschrieben BERG u.a. ein Phänotyp EsD (4).
Für die Paternitätsbegutachtung ist das Esterase-System gut brauchbar. Die Vaterschaftsausschlußchance liegt bei 9 bis 1o %.
Die Frage des forensischen Beweiswertes der EsD erörterten 1978 BRINKMANN und PÜSCHEL. Sie stellten fest, daß die EsD nur an frischen Spuren gut nachweisbar ist. JAY und PHILP (1979) mischten Blutspuren Speichel und Schweiß zu und konnten beobachten, daß außer geringen Verzerrungen, die Spuren gut zu typisieren waren. Sie konnten auch an Spermaspuren und Vaginalsekret EsD-Muster zeigen, die mit dem Bluttyp des Probanden übereinstimmten.

OEPEN et al.(198o) stellten hingegen fest, daß weder im Gesamtsperma noch in lysierten Spermien EsD Phänotypen nachweisbar sind. Sie beobachteten bei 42 Proben nur 17 sehr schwache Banden, die nicht zuzuordnen waren. Die von ihnen untersuchten Speichelproben sind für die Spurenuntersuchungen ohne Aussagekraft, weil ihre geringe Konzentration eine genaue Bestimmung nicht erlaubt.

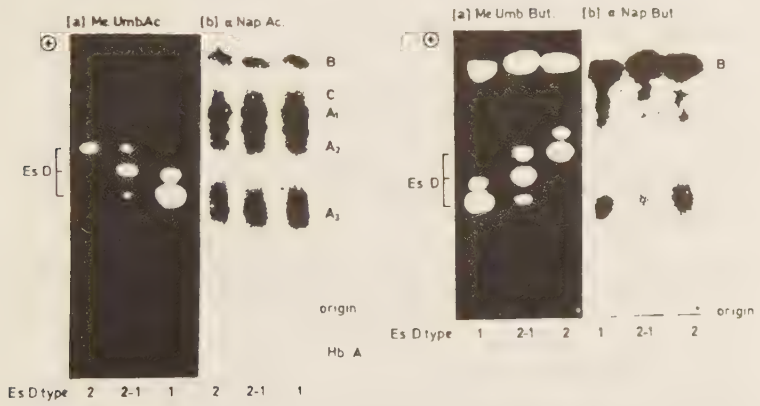

Abb. 2. Darstellung der EsD Isoenzyme der Erythrozyten nach Entwicklung mit 4- Methylumbelliferryl und -naphtyl -acetat (aus H. HARRIS and D.A.HOPKINSON "Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics" Amsterdam 1978)

II. Material und Methoden

A. Allgemeines

Insgesamt wurden bei 76 Obduktionen im Institut für Rechtsmedizin der Universität Düsseldorf je nach Möglichkeit 2 Backenzähne oder mehrere Schneidezähne extrahiert.
Das Alter der untersuchten Leichen lag zwischen 12 und 75 Jahren (21 weiblich, 55 männlich).

Mehrere der Leichen wiesen bereits deutliche Fäulnisveränderungen auf. Eine Leiche wurde nach 6 Wochen Liegezeit exhumiert.

Bei der Auswahl der Zähne ließ es sich nicht vermeiden, daß die Zähne mit Füllungen versehen oder kariös zerstört waren.

Die Materialgewinnung zeigte mengenmäßig sehr unterschiedliche Ergebnisse, weil "die involutorischen, regressiven und degenerativen Veränderungen der Pulpa so sehr zum Wesen dieses Gewebes gehören, daß man nicht einmal eine genaue Grenze zwischen dem Physiologischen und dem Pathologischen ziehen kann" (HÄUPL et al., 1958).

B. Materialgewinnung

Die entnommenen Zähne wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gereinigt. Das Pulpencavum wurde mit Hilfe eines Seitenschneiders axial geöffnet und das Zahnmark mit einer Extripationsnadel gewonnen.

Eine wichtige Rolle spielt die Homogenisierung des Gewebes.
Bei den Vorversuchen wurde ein Achatmörser benutzt. Dabei trocknete die Pulpa zu schnell aus. Die Verwendung von zwei Objektträgern, die ein Zerquetschen des Gewebes ermöglichten, erwies sich als eine geeignetere Methode. Dem breiartig vorbereiteten Gewebe wurde ein Tropfen Aqua dest. zugesetzt.

Es konnten meistens reißkorngroße Gewebsstückchen bearbeitet werden (nicht unter o,o5 mg). In vielen Fällen gelang eine Präparation größerer Gewebsstücke, die geteilt bei mehreren Versuchen verwendet werden konnten.

Das Homogenat wurde in Kunststoffeinwegröhrchen im Kühlschrank bei -2o°C aufbewahrt.
Die Herstellung der Kontroll-Hämolysate erfolgte durch zwei- bis dreimaliges Waschen der Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung und anschließendem Einfrieren bei -2o°C.

Für die Gm- und Km-Bestimmung benötigte man das Kontroll-Serum, das gleichfalls bei - 2o°C aufbewahrt wurde.

Die Materialgewinnung bei mumifizierten Leichen ist etwas schwieriger, weil die Zahnpulpa nur als "Staub" vorgefunden wird. An einem Schädel ohne Weichteile, dessen Liegezeit auf ca. 2o Jahre geschätzt wird, konnte man mehrere Backenzähne extrahieren. Nach einer vorsichtigen Eröffnung des Pulpencavums konnte man mit einem Fliesstoff und NaCl die staubigen Partickel der Pulpa auswischen. Die Wände des Cavums wurden leicht abgekratzt. Das so gewonnene Material konnte homogenisiert und eingefroren werden.

Bei einem vor 4 Jahren extrahierten Weisheitszahn konnte eine vollständige, aber getrocknete Pulpa präpariert werden, die nur mit Aqua dest. aufgelöst werden mußte.

C. Agglutinationshemmtest zur Gm- und Km-Allotypen-Bestimmung

Der Nachweis von erblich determinierten Immunglobulineigenschaften geht auf GRUBB sowie GRUBB und LAURELL (1956) zurück. Es wurden mittels des Agglutinationshemmtestes die Allotypen Gm(1,2,3,5,1o,21) und Km (1) nachgewiesen.

1.Reaktionsteilnehmer

Frische Erythrozyten der Blutgruppe O, Rhesus positiv (D+)
Inkomplette Antikörper der Spezifität Anti-D mit den jeweiligen Gm- bzw. Km-Spezifitäten
Gm- bzw. Km-Antikörper
Probandenserum
Pulpahomogenat

2.Sensibilisierung der Erythrozyten

Die Erythrozyten werden 3 mal mit NaCl gewaschen. Es werden o,2 ml des Sediments, 1 ml NaCl-Lösung und o,4 ml Anti-D/Gm bzw. Anti-D/Km des betreffenden Testsystems gründlich gemischt und anschließend ca. 2 Stunden bei 37°C inkubiert.

3.Bestimmung der Gm- bzw. Km-Merkmale

Das Probandenserum wird 1 : 1o mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und die aufgetaute Pulpa mit kalter NaCl-Lösung versetzt. Auf einer Tüpfelplatte werden reihenweise je 1 Tropfen der Pulpasuspension mit je 1 Tropfen des Probandenserums aufgetragen und jeweils mit 1 Tropfen Anti-Gm- bzw. Anti-Km-Serum vermischt. Hinzu kommt jeweils 1 Tropfen Erythrozytensuspension. Anschließend muß der Ansatz ca. 3o Minuten im Kühlschrank inkubieren. Danach werden die Reaktionen abgelesen: Agglutination bedeutet Fehlen-, keine Agglutination Vorhandensein der gesuchten Eigenschaften.

D. Darstellung der Enzympolymorphismen der EsD mit der Stärkegelelektrophorese

---

1973 wurde von HOPKINSON, MESTRINER, CORTNER und HARRIS der Polymorphismus der Esterase D beschrieben. Das Trennverfahren gelang mittels horizontaler Stärkegelelektrophorese. Die EsD hydrolysiert 4 -Methylumbelliferryl-acetat und -butyrat.

1. Vorbereitung des Pulpenhomogenats:
   Die aufgetaute Pulpa wird mit 1 Tropfen 2-Mercaptoäthanol versetzt und ohne Träger verimpft.

2. Modifikation der Bestimmungstechnik nach HOPKINSON et al.1973

   Elektrophoresepuffer:

139,5 g Tris	MerckNr.	8382
75,o g Weinsäure	"	8o4

   getrennt lösen und mit Aqua dest. auf 5.ooo ml auffüllen.

   Gelpuffer:

6,4 g KH_2PO_4	MerckNr.	4873
21,4 g $Na_2HPO_4 . 2 H_2O$	"	658o

   mit Aqua dest. auf 5oo ml lösen

   Stärkegel:

   6o, g Stärke
   5oo ml Aqua dest.
   5 " Gelpuffer

   Hämolysat:

   mit Toluol ausgeschüttelt

Spannung:

ca. 5 V/cm, mindestens 25 mA

Laufzeit:

16 Stunden

Entwicklung:

Filterpapier auflegen
ca. 7 - 9 mg 4-Methyliumbelliferylacetat
in 2,25 ml Aceton lösen.
Dann 5,25 ml Acetatpuffer dazugeben und
über das Filterpapier geben.
Nach ca. 10 min. Inkubation unter
UV - Licht ablesen.

Acetatpuffer:

37,7 g Natriumacetat MerckNr. 6267
6,3 ml 96 % Essigsäure
mit Aqua dest. auf 1.000 ml auffüllen
pH 5,2

3. Nachweisverfahren

a) Entwicklerlösung

1,5 mg 4-Methyl-Umbelliferrylacetat
1 ml Aceton
auffüllen auf 1o ml mit o,o5 m Acetatpuffer (pH 5,2)

b) Entwicklungszeit

2o Minuten bei 37°C

c) Ablesung

unter UV-Licht bei 36o nm

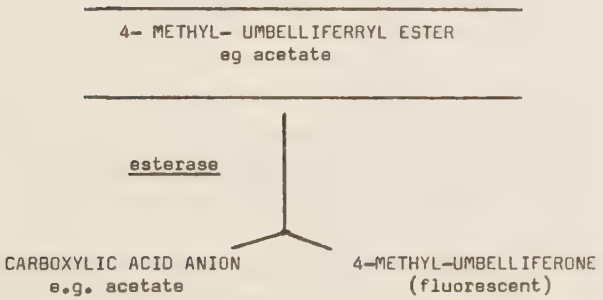

Abb.3. Reaktionsablauf zur Entwicklung des EsD Isoenzyme (aus H. HARRIS and D.A.HOPKINSON "Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics "Amsterdam 1978)

E. Bestimmung der SEP mit der Celluloseacetatfolien-Elektrophorese

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung der SEP - Isoenzymtypen mit Hilfe der Celluloseacetatfolien-Elektrophorese nach SONNEBORN (1973) durchgeführt.

1.Vorbereitung des Pulpenhomogenats:

Die aufgetaute Pulpa wird mit 1 Tropfen 2-Mercaptoäthanol versetzt und tropfenweise auf die Folie aufgetragen.

2.Bestimmungstechnik:

a) Celluloseacetatfolie (15 x 7,5 cm) der Fa.Biotest
CAF-Elektrophoresesystem der Fa.Biotest

b) Puffer
Phosphat/Citrat-Puffer o,oo62 M
pH 6,4

c) Elektrophorese
1o5 Minuten bei Zimmertemperatur
25o Volt

3.Entwicklung:

a) 3o ml Entwicklungspuffer SEP werden mit 4oo mg Agar aufgekocht und auf Plexiglasplatten ausgegossen. CAFG-Methylumbelliferrylphosphat SEP wird mit o,6 ml Entwicklungspuffer gelöst und auf der Agarplatte aufgetragen.

b) Nach Beendigung der Laufzeit werden die Folien abgeschnitten und mit der Oberseite auf den Agar gelegt.

c) Die Platten werden 3o Minuten in einer feuchten Kammer bei $37^{o}C$ inkubiert und anschließend ausgewertet.

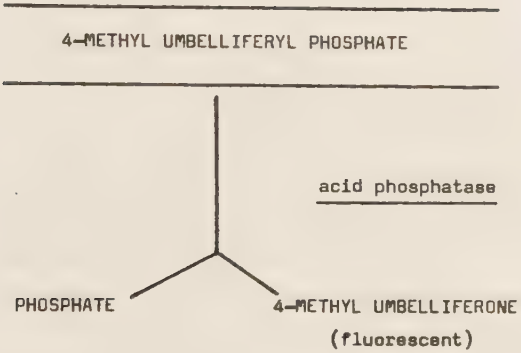

Abb.4. Reaktionsablauf zur Entwicklung der SEP - Isoenzyme (aus H. HARRIS and D.A.HOPKINSON "Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics" Amsterdam 1978)

III. Ergebnisse

A. Nachweis von Gm- und Km-Allotypen

Mit Hilfe des Agglutinationshemmtestes konnten an diesem Untersuchungsmaterial die Merkmale Gm (1,2,3,5,1o,21) - und Km (1) - nachgewiesen werden. Bei den Homogenaten, die parallel mit den Seren untersucht wurden, konnte eine eindeutige Übereinstimmung der Befunde beobachtet werden. Nur in drei Fällen gab es sowohl in der Zahnpulpa als auch im zugehörenden Serum nicht eindeutige Ergebnisse. Die Reaktionsstärken waren teilweise unterschiedlich, aber ein Zusammenhang mit den Fäulnisveränderungen oder der Liegezeit war nicht ersichtlich.

Es wurde auch der Pulpenstaub eines mumifizierten Schädels untersucht, der 2o Jahre aserviert wurde. Selbst diese Ergebnisse zeigten eine gute Reaktionsintensität.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3. Nachweis der Faktoren Gm (1,2,3,5,1o,21)
Km (1) an der Zahnpulpa

A. Ergebnisse an 34 Leichen (Todeszeit 1 - 14 Tage)

n	Phänotyp Pulpa		Serum
21	Gm (-1,-2,3,5,1o,-21)	Km (-1)	wie Pulpa
2	Gm (-1,-2,3,5,1o,-21)	Km (1)	" "
5	Gm (1,-2,3,5,1o,21)	Km (-1)	" "
1	Gm (1,2,3,5,1o,21)	Km (-1)	" "
1	Gm (1,2,-3,-5,-1o,21)	Km (-1)	" "
1	Gm (-1,2?,3,5,1o,-21)	Km (-1)	" "
1	Gm (1,-2,3,5,-1o,21)	Km (-1)	" "
1	Gm (1,-2,3,5,1o?,21)	Km (-1)	" "
1	Gm (1,2,-3,5?,-1o,21)	Km (-1)	" "

B. Ergebnisse an 6 weiteren Pulpen

Pulpa		Serum	Bemerkung
Gm (1,-2,3,5,1o,21)	Km (-1)	./.	nach 6 Wochen exhumiert
Gm (1,-2,3,5,1o,21)	Km (-1)	./.	hochgradige Fäulnis
Gm (-1,-2,3,5,1o,-21)	Km (-1)	wie Pulpa;	(ca.3 Wochen)Madenbefall
Gm (-1,-2,3,5,1o,-21)	Km (-1)	./.	(2o Jahre ?) Schädelfund
Gm (-1,-2,3,5,1o,-21)	Km (-1)	./.	3 Wochen Liegezeit
Gm (1,-2,-3,-5,-1o,21)	Km (-1)	wie Pulpa;	Weisheitszahn vor 4 Jahren extrahiert

B. Nachweis der Isoenzyme der EsD

Die Ergebnisse der Stärkegelelektrophorese sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt. Um Fehldiagnosen zu vermeiden, blieben schwache und diffuse Banden-Muster als nicht ablesbar unberücksichtigt.

Es zeigten sich keine gewebsspezifischen Besonderheiten und keine Abweichungen im Vergleich zu den Kontrolluntersuchungen.

Bei den zwei negativen Ergebnissen handelt es sich um Sonderfälle, die ohne Kontroll-Hämolysat untersucht wurden.

Tabelle 4. Nachweis der Phänotypen EsD (1) und EsD (2-1) an Pulpahomogenaten

	Phänotyp		
n	Pulpa	Hämolysat	Bemerkung
4	EsD (2-1)	wie Pulpa	1 stark verweste Wasserleiche
7	EsD (1)	" "	1 Leiche mit Madenbefall
2	nicht ablesbar	EsD (1)	

Abb. 5 a

Abb. 5 b

H P H

Abb. 5 a, b Fotografische Darstellung der IsO-Ergebnisse der untersuchten Homogenate und Hämolysate

H = Hämolysat P = Pulpa

C. Nachweis der Isoenzyme der SEP

Es wurden 23 Proben mit Hilfe der Celluloseacetatfolien-Elektrophorese untersucht. Die nebeneinander aufgetragenen Homogenate und Hämolysate zeigten sehr unterschiedliche Ergebnisse.

Die identifizierten Banden der Blutproben waren mit den Banden der Zahnpulpa nicht identisch. In allen Fällen zeigten sich bei der Pulpa Untergruppierungen oder Verzerrungen der Banden.

Abb. 6 a

H P P H

Abb. 6 b

P P H

Abb.6. a,b. Fotografische Darstellung der SEP der untersuchten Hämolysate und Homogenate

P = Pulpa H = Hämolysat

Q. Kasuistik

Anhand von 3 Fällen soll illustriert werden, wie man mit Hilfe von Blutgruppenbestimmungen an der Pulpa weitere Möglichkeiten zur Identifizierung erhalten kann.

Fall A.

Die Kriminalpolizei in Düsseldorf ermöglichte es, für diese Studie Untersuchungen an einem Schädel durchzuführen, der dort seit 2o Jahren asserviert wurde. Nach den Ermittlungen der Polizei handelte es sich um ein ca. 2o Jahre altes Mädchen, das aber nicht identifiziert werden konnte.
Der Schädel beinhaltete folgende Zähne:

oben rechts	oben links
$\hat{8}$ 7 6 5 4	4 6 7 $\hat{8}$

Die Weisheitszähne (8) waren nur bis zur Krone ausmineralisiert, wobei der Schmelz noch sehr brüchig und schalenartig angelegt war, die Wurzeln fehlten noch vollständig.

Aus den restlichen Zähnen wurde ein Präparat zubereitet: Die Pulparäume wurden mit Fliesstoff und physiologischer Kochsalzlösung ausgewischt und die Innenwände des Pulpencavums abgekratzt.

Das gewonnene Material reichte aus, um ABO und Gm- und Km- Bestimmungen durchzuführen. Das Ergebnis lautete:

AB, Gm (-1,-2,3,5,1o,-21), Km (-1)

Neben diesen Ergebnissen konnte noch festgestellt werden, daß das Alter dieses Mädchens zu hoch geschätzt wurde. Nach dem Stand der Zahnentwicklung handelt es sich um ein ca. 16 - 18 jähriges Mädchen.

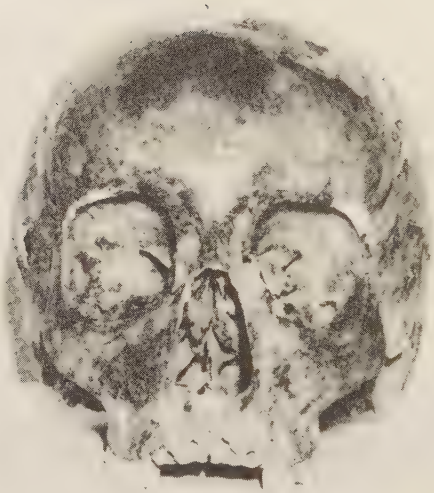

Abb.7a

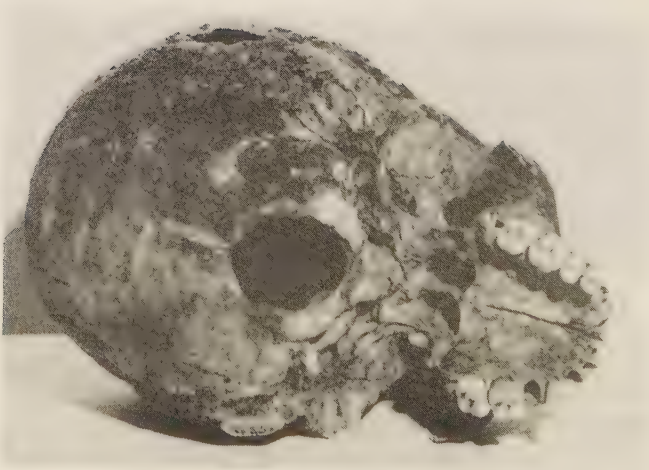

Abb.7 b

Abb.7. a,b.Frontal-und Palatinalansicht des 2o Jahre alten Schädels

Abb. 8 a

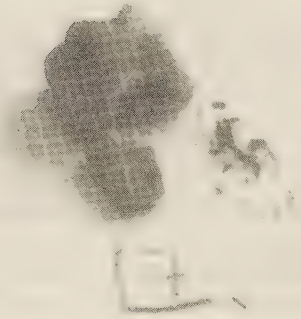

Abb. 8 b

Abb.8. a, b. Der zweiter Molar und die mumifizierte Zahnpulpa

Fall B.

Anläßlich einer Exhumierung (nach 6 Wochen Liegezeit) eines 12 jährigen Jungen wurden mehrere Zähne extrahiert und untersucht. Man konnte mikroskopisch den unterschiedlichen Bakterienbefall der Pulpa feststellen. Da bei einem 12-jährigen das Wurzelwachstum noch nicht abgeschlossen ist, konnte man feststellen, daß die Zähne, die das Foramen apicale eng geschlossen hatten, auch noch eine fast intakte Pulpa beinhalteten. Die Zähne mit noch nicht abgeschlossenem Apex zeigten ein schmieriges Fäulnissekret. Es wurden beide Materialarten getrennt untersucht, die Ergebnisse stimmten jedoch überein:

Gm (1,-2,3,5,1o,21); Km (-1)
SEP (wie CB)*

Diese Ergebnisse nach der Exhumierung stimmten mit den Blutprobenuntersuchungen, die beim Auffinden der Leiche durchgeführt wurden, überein.

Fall C.

Eine Mitarbeiterin des Institutes für Rechtsmedizin überließ für diese Studie ihren vor 4 Jahren extrahierten Weisheitszahn. Dieser wurde 4 Jahre bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die vorgefundene Zahnpulpa wurde mit Aqua dest. aufgelöst und anschließend untersucht. Das Ergebnis lautete:

Gm (1,-2,-3,-5,-1o,21); Km (-1)

Mit Hilfe einer frisch entnommenen Blutprobe konnte das Ergebnis bestätigt werden.

* Wie bereits erwähnt, kamen bei der SEP-Bestimmung am Pulpamaterial - wenn überhaupt - nur Muster zur Darstellung, die unabhängig vom erythrozytären SEP - Phänotyp dem Typ SEP (CB) entsprachen.

IV. Diskussion

A. Besonderheiten bei Bestimmung der Blutgruppenmerkmale an menschlicher Zahnpulpa

Durch die außerordentliche Stabilität der Zähne gegenüber äußeren Einflüssen, ergab sich die Frage, ob und wie weit die Zahnpulpa eine praktische Bedeutung in der forensischen Serologie erringen kann. Die ersten Untersuchungen führten TUROWSKA und TRELA (1977) sowie PETERSEN (1977) durch. Sie haben bewiesen, daß an der Zahnpulpa stark fäulnisveränderter Leichen ein Nachweis der Blutgruppenmerkmale (z.B. AK-,ADA-, PGM-,6-PGD-Isoenzyme) möglich ist. Die praktische Bedeutung dieser Bestimmungsmöglichkeiten hat PETERSEN anhand von Beispielen dargestellt.

Um die in dieser Studie erzielten Ergebnisse verständlich zu diskutieren, ist es erforderlich, zuvor einige Anmerkungen über den Aufbau des Pulpengewebes zu machen:
Die menschliche Zahnpulpa ist durch zwei Hartsubstanzschichten eingeschlossen und zwar durch den Zahnschmelz und das Zahnbein (oder Dentin). Histologisch gesehen, besteht das Gewebe aus verschiedenen Zellarten, die der Bindegewebsreihe angehören (EIFINGER 197o; MENZEL 1971). Die Hauptmasse bilden die Fibroblasten und Fibrozyten, sowie Histiozyten und Mastzellen. Besonders häufig kommen in den Gewebslücken Plasmazellen vor. Die intrazellulären Räume werden von einer

gallertigen Grundsubstanz ausgefüllt. Die äußere Zone der Pulpa besteht aus den gewebsspezifischen Zellen, den Odontoblasten. Die Blutversorung erfolgt durch ein dichtes Netz von Ateriolen und Venolen. Die Hauptgefäße und der größere Teil der Kapillaren werden von Nervenstämmen und -fasern begleitet.

Ob die nachgewiesenen Gruppensubstanzen an den bindegewebigen Strukturen der Pulpa oder an in den Gefäßen befindlichen "Blutresten" vorhanden sind oder ob die gewebesspezifischen Odontoblasten einen Einfluß auf die Ergebnisse hatten, konnte nicht festgestellt werden.
Eine Fehlerquelle bei den Untersuchungen kann bei Zersetzung der Pulpa durch Mikroorganismen, welche selbst Blutgruppensubstanzen aufweisen können, die denen des Menschen ähneln, auftreten (SPRINGER und ANSELL, 1958; JSEKI und OKADA, 1951; JSEKI et al.,1959; SCHLEYER und OEPEN, 1977). Es ist deshalb bei der Auswahl der Zähne darauf zu achten, daß diese keine tiefe Karies aufweisen. Wichtig ist auch, daß diese Zähne nach Möglichkeit keine großen Füllungen oder Kronen beinhalten, weil diese involutorische, regressive und degenerative Veränderungen verursachen und somit auch die gewonnene Materialmenge beeinträchtigen.
Bei Fäulnisleichen ist im Einzelfall auch zu prüfen, ob eine retrograde, d.h. durch das Foramen apicale, bakterielle Zersetzung der Pulpa stattgefunden hat.

B. Gm- und Km-Allotypen in der Zahnpulpa

Bei der in dieser Studie verwendeten Methode zur Bestimmung der Gm- und Km-Allotypen im Zahnpulpengewebe handelt es sich um ein bewährtes Verfahren der Blutspurenkunde. Die sehr empfindliche Technik gestattet den Gm- und Km-Nachweis selbst bei geringsten Serum-IgG-Konzentrationen und eignet sich zur Feststellung der Gm- und Km-Gruppen auch in Geweben und Körperflüssigkeiten.
Da die Immunglobuline eine große Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen aufweisen, ergab sich die Frage, ob sie auch in der Zahnpulpa nachweisbar sind, vor allem weil die Pulpa durch die Hartsubstanzen des Zahnes eingeschlossen ist und ohnehin den Umwelteinflüssen schwer zugänglich ist. Eine wichtige Komponente stellt auch die gute Vaskularisation des Gewebes dar, die nach KRÄMER (1963) bei der Verteilung der Immunglobuline eine Rolle spielt. BLENK et al. (1974) sowie BRANDTZAEG et al. (197o) wiesen darauf hin, daß entzündliche Prozesse (Anstieg der Immunglobulinkonzentration) keine Fehlerquellen darstellen, sondern die Sicherheit der Bestimmung erhöhen können.

Diese Erkenntnisse konnten auch bei der Gm- und Km-Untersuchung in der Zahnpulpa beobachtet werden. Die Zahnpulpa gehört zu den stark vaskularisierten Geweben. Bei kariösen Zähnen (pH Änderung) sind die Gefäße der Pulpa erweitert und stärker durchblutet, so daß auch am "nicht gesunden Zahn" Material für Gm-und Km-Typisierung zur Verfügung stehen kann.

Durch die Altersatrophie der Pulpa und die ständig neue Bildung von Dentin (EIFINGER, 197o) ist die Menge der gewonnenen Pulpa unterschiedlich und oftmals sehr gering.

Das Alter der untersuchten Leichen lag zwischen 12 und 75 Jahren. Es war bei der Materialgewinnung von Bedeutung, aber es beeinflußte keineswegs die Gm- und Km-Bestimmung. Die Menge der gewonnenen Pulpa unterschritt nicht o,o5 mg. Ein Zusammenhang

zwischen der Intensität der Reaktionen und dem "post mortem" Alter der Proben konnte nicht beobachtet werden. Selbst mumifizierte Pulpareste zeigten eine gute Reaktionsintensität.

Es konnte mikroskopisch nachgewiesen werden, daß die Größe des Foramen apicale bei Fäulnisveränderungen von Bedeutung ist. Eine Vergleichsmöglichkeit bot der Fall B, bei dem ein Wechselgebiss vorgefunden wurde: beim abgeschlossenen Wurzelwachstum geringer Bakterienbefall, bei weitem Foramen apicale - schmierige, stark zersetzte Pulpa.
Selbst bei stark verwesten Wasserleichen konnte man eine fast fäulnisfreihe Pulpa beobachten, die eine sichere Gm- und Km-Bestimmung gestattete.

Alle untersuchten Proben zeigten eine eindeutige Übereinstimmung der Befunde an Pulpa und Serum. Nur in drei Fällen war die Reaktion sowohl des Homogenats, wie auch des Serums nicht exakt ablesbar. Die Ursache könnte in pathologischen Einflüssen oder vorausgegangener Medikation liegen, die bei der Studie nicht berücksichtigt wurden.

C. Die Isoenzyme der EsD und SEP in der Zahnpulpa

1. Esterase D

In der forensischen Medizin wird die EsD bei der Paternitätsbegutachtung wie auch zur Identifizierungszwecken bestimmt. Untersuchungen an Hämolysaten werden in der forensischen Serologie durchgeführt, jedoch Bestimmungen an Gewebsproben werden in der Literatur immer wieder unterschiedlich beurteilt (OEPEN et al., 198o; BRINKMANN und PÜSCHEL, 1978). Durch eigene Untersuchungen der EsD-Isoenzyme an der Zahnpulpa, konnte eine eindeutige Übereinstimmung der Homogenate

und der Hämolysate gezeigt werden. Es wurden bei insgesamt 13 Proben 4 EsD (2-1), 7 EsD (1) und 2 unklare Ergebnisse erzielt. Bei den 2 unklaren Ergebnissen handelt es sich um diffuse Banden-Muster, die nicht identifiziert werden konnten. Die Ursache könnte auf nicht ausreichende Enzymaktivität der Zahnpulpa zurückgeführt werden.

Das Alter der Spuren stand in keiner Korrelation zur Stärke der Aktivität der Proben. Es konnte an einer Pulpa, einer mit Maden befallenen Leiche (ca. 3 Wochen alt) deutlich der Phänotypus EsD (1) abgelesen werden.
Die gute Darstellung der Esterase D in der Zahnpulpa widerspricht der Annahme, daß sie nur an frischen Blutproben möglich ist (PARKIN und ADAMS, 1975).
Die Menge der Pulpa spielte keine größere Rolle. Jedoch eine gute Homogenisierung des Gewebes ist notwendig.
Wie oben genannte Beispiele zeigen, hat die Todeszeit keinen größeren Einfluß auf die Genauigkeit der Darstellung der EsD. Entscheidend ist der Zustand der Zahnpulpa, die nicht sichtbar autolytisch verändert sein darf.

2. Die Saure Erythrozytenphosphatase

Auch das genetisch polymorphe Enzym der SEP kommt nicht nur in den roten Blutkörperchen, wie man es lange Zeit vermutete, sondern auch in verschiedenen Organen wie z.B. in der Plazenta und Zellkulturen vor. Die gewebsspezifischen Isoenzyme zeigt Abb.9.

Die Literaturangaben über die SEP Bestimmungen fäulnisveränderten Spuren zeigen differenzierte Auffassungen über die Enzymaktivität und die Thermostabilität dieses Enzyms. Über Fehltypisierungen die durch Überlappungen und Begleitspots der einzelnen Phänotypen verursacht werden, berichten fast alle Autoren. Auch gewebsspezifische Einflüsse auf die SEP-Muster wurden beobachtet. (HARRIS u. HOPKINSON, 1978; PETERSEN, 1977; OEPEN und Mitarb. 1971).

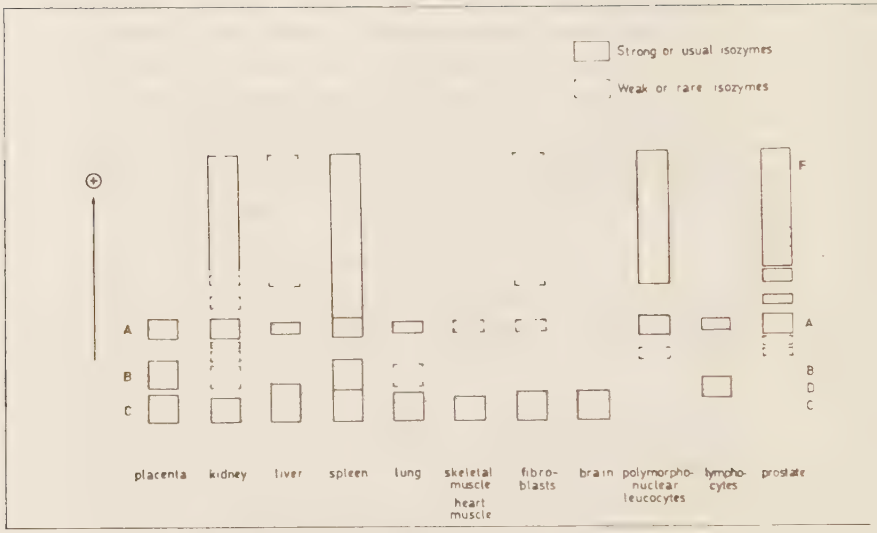

Abb.9. SEP - Muster in verschiedenen Organen (nach HARRIS, H and D.A.HOPKINSON "Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics" Amsterdam 1978).

Bei den eigenen Untersuchungen an der Zahnpulpa konnten ähnliche Phänomene beobachtet werden. In allen Fällen zeigten sich schwache, verzerrte Banden, die mit denen der Hämolysate nicht identisch waren. Es konnte nicht festgestellt werden, ob diese gewebsspezifischen Muster in einem Zusammenhang mit den pulpenspezifischen Zellen, den Odontoblasten, stehen.

Über ähnliche Schwierigkeiten berichtete PETERSEN (1977) bei der ADA Untersuchung.

Die starken Verzerrungen der Banden könnten auch durch Überlappungen der erythrozytären und der gewebsspezifischen SEP entstehen, weil die Pulpa zu den stark kapillarisierten

Geweben gehört. Obwohl die Menge und das Alter der Proben unterschiedlich waren, konnte man keine Differenzen bei der Aktivitätsstärke feststellen. Es steht jedoch fest, daß die SEP-Isoenzyme an Fäulnisleichen, bei denen die Zahnpulpa noch nicht auffällig autolytisch verändert war, beobachtet werden konnten. Eine Identifizierung der einzelnen Phänotypen war jedoch nicht möglich.

V. Zusammenfassung

In einer 76 Fälle umfassenden Stichprobe wurde die Nachweisbarkeit der Blutgruppenmerkmale Gm (1,2,3,5,1o,21), Km (1) sowie der Isoenzyme der Esterase D und der Sauren Erythrozytenphosphatase an Zahnpulpengewebe untersucht mit dem Ziel, auch an fäulnisveränderten Leichen weitere informative Blutgruppenmerkmale bestimmen zu können.

Ein sicherer Nachweis der Gm (1,2,3,5,1o,21) und Km (1) ist mit Hilfe des üblichen Agglutinationshemmtestes möglich. In keinem Fall ergaben sich falsch positive oder von den Kontrollen abweichende Ergebnisse. Auch in den Fällen, die ohne Kontrollserum untersucht werden mußten, waren die Ergebnisse vertrauenswürdig typisierbar.

Bei der Bestimmung der Esterase D stimmten die Ergebnisse der Pulpahomogenate und der Kontrollhämolysate überein.

Es wurden Bestimmungen der SEP-Isoenzyme an Pulpenhomogenaten durchgeführt. Diese Isoenzym-Muster konnten nachgewiesen werden, waren jedoch unvollständig identifizierbar und entsprachen nicht dem zugehörigen erythrozytären Phänotyp.

Es wird über 3 Sonderfälle berichtet, bei denen die Bestimmung der Gm- und Km-Merkmale in der Zahnpulpa erfolgreich durchgeführt werden konnte und den praktischen Wert dieser Untersuchungen deutlich darstellen konnte.

VI. Literatur

1. ALEPA F.P., STEINBERG A.G. (1964) The production of anti-Gm reagents by rhesus monkeys immunized with pooled human gamma globulin.
Vox Sang. 9,333

2. BENDER K, FRANK R, (1974) Esterase D-Polymorphismus: Darstellung in der Hochspannungselektrophorese und Mitteilung von Allelhäufigkeiten
Hum.Genet. 23, 315-318

3. BENDER K, (1975) Humangenetik. Protein- und Enzymvarianten.
Band 1/3, 223-241, 244-264
G.Thieme-Verlag, Stuttgart

4. BERG K, SCHWARZFISCHER F, WISCHERATH H, (1976) Esterase D Polymorphism: discription of the "new allele EsD"
Hum.Genet. 32 (81-83)

5. BLENK H, HOFSTETTER A, BÖWERING R, BUTTLER R, HARTMANN M, MARX F, (1974) Immunelektrophorese des Ejakulats
Münch.Med.Wochenschr. 116, 35-38

6. BRANDTZAEG P, FJELLANGER J, GJERULDSEN S, (197o) Human secretory immunglobulins I.Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunglobulins.
Scond J Haematol (Suppl) 12, 1-83

7. BRINKMANN B, KOOPS E, HOPPE H.H, (1971) Disagreements between observed and expected data in erythrozyte acid phosphatase polymorphism.
Z. Rechtsmed. 69, 191

8. BRINKMANN B, PÜSCHEL K, (1978) Forensischer Anwendungsbereich und Populationsgenetik der Enzympolymorphismen Esterase D und Glyoxalase I.
Z. Rechtsmed. 81, 181-19o

9. EIFINGER F,(197o) Die Mikromorphologie der menschlichen Zahnpulpa
Hanser Verl. München

1o. FISHER R.A, and HARRIS H, (1971)Studies on the separate isozymes of red cell acid phosphatase phenotypes A and B I. Chromatographic separation of the isoenzymes
Ann.Hum.Genet. 34, 131

11. FRIEDRICH W, OEPEN I, (1978) Zum Nachweis der Gm- u. ihren InV-Merkmale an Blut-und Sekretspuren. Einfluß von Hitze, UV-Bestrahlung und Feuchtigkeit
Archiv Krim. 161: 41

12. KHALAP S, PEREIRA M, RAND (1976) Gm and InVgrouping in blood stains
Med. Sci.Law. 16, 4o

13. FÜNFHAUSEN G, SAGAN Z, (1961) Über die Möglichkeit des Nachweises der Gruppeneigenschaft Gm in Blutspuren
Deutsch.Ges.Wes. 16 S 2468

14. FÜNFHAUSEN G, SAGAN Z, SCHRAMM H, (1962) Über den Nachweis von Gm in Blutspuren
Deutsch.Ges.Wes. 53/1, 18/27

15. GÖRTZ R, (1969) La recherche des antigenes Gm dans les taches de sang pour leur identification biologique et medico-legale.
Monographies du Centre d'Hemotypologie c.H.u. de Toulouse (Paris

16. GROSS D, TERRY W, EPSTEIN M.V, (1962) The association of heredidary gammaglobulin (a) activity with a fragment of human gammaglobulin produced by papain digistion
Biochem.biophys.Res.Commun 7 S, 259

17. GRUBB R, (1956) Agglutination of erythrocytes coated with "incomplete" anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera
Acta path.microbiol.scand. 39, 195

18. GRUBB R, LAURELL A.B, (1956) Hereditary serological human serum groups
Acta path.microbiol.scand. 39, 39o

19. GRUBB R, (197o) The Genetic Markers of Human Immunglobuline
Springer Verlg. Berlin

2o. HARBOE M, LUNDEVALL J, (1959) A new type in the Gm-system
Acta path. microbiol. scand. 45, 357

21. HARRIS H, HOPKINSON D.A, (1978) Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics
Elsevier North Holland, Amsterdam

22. HÄUPL K, MEYER W, SCHUCHARDT K, (1958) Die Zahn-,Mund- und Kieferheilkunde, Bd. 1, 4o3, 489-494
Verlag von Urban & Schwarzenberg, München/Berlin

23. HEIFER U, SADIGH F, (1969) Nachweis der Gruppenantigene A und B an menschlichen Zähnen
Arch.Krim. 143, 173-177

24. HENKE J, (198o) Blutspurenuntersuchungen an einem 1724 geschriebenen Brief
Beitr.gericht.Med. Band 38

25. HENKE J, BASLER M, van LOGHEM E, de LANGE G, (1981) Über ungewöhnliche Gm-Phänotypen
Forens.Festschrift zum 6o.Geburtstag von O.Prokop

26. HENKE J, MÜLLER J.B, SCHWEITZER H, (1982) Zum Nachweis von Gm- und Km-Allotypen an menschlichen Ceruminalpfröpfen
Beiträge gerichtl.Med.

27. HILSCHMANN N, CRAIG L.C, (1965) Amino acid sequence studies with Bence-Jones proteins
Proc.nat.Acad.Sci (Wash) 53, 14o3

28. HOPKINSON D.A, SPENCER N, HARRIS H, (1963) Red cell acid phosphatase variants: A new human polymorphism.
Nature (Land) 199, 969

29. HOPKINSON D.A, HARRIS H, (1969) Red cell acid phosphatase, phosphoglucomutase and adenylate kinase
In: Biochemical Methods in Red cell Genetics
Hersg. von J.J.Yunis Academic Press, New York (S.337)

30. HOPKINSON D.A, MESSTRINER M.A, CORTNER J, HARRIS H, (1973)
Esterase D: a new human polymorphism.
Ann. hum. Genet. 37, 335

31. HOSTE B, BROCTEUR J, ANDRE A, (1978) Indefinite storage of
dried Gm and Km (InV) antigens
(Examination of blood stains 33 years old)
Forens.sci.11: 109

32. ISEKI S, OKADA S, (1951) On an specific enzym which decomposes
group A substances
Proc.Japan Acad. 27 (455-458)

33. ISEKI S, FURUKAWA S, YAMAMOTO S, (1959) "B-substance-decomposing
enzyme produced by an anaerobic bacterium.I.
Serological action of the B-decomposing enzyme
Proc.Jap.Acad. 35 (507-512)

34. JAY B.W-H, PHILP W.M.S, (1979) A stability study of the
esterase D isoenzymes
J.forens.Sci. 24 (193-199)

35. JOHNSON E.M, u.Mitarb. (1972) Molecular differentiation of
several enzymes in human embryos
Teratology 5, 89

36. JORCH G, OEPEN I, (1977) Nachweis der Faktoren Gm (1,2,4,5,21)
und InV (1) in menschlichen Sekreten: Speichel, Schweiß,
Nasensekret und Sperma
Z.Rechtsmed.79

37. KIPPS A.E, DAVIE M.J, WHITEHEAD P.H, (1975) InV and Gm markers
in saliva and semen.
Vortrag: Internat.Tagung, Ges.forens.Blutgr.Kunde,
Innsbruck

38. KIRST R, LANDES B, (1973) Untersuchungen zur Gm-und ABO- Be-
stimmung aus Knochensubstanz
Krim.forens.Wiss. 11, 71-82

39. KIRST R, BRÖMMER G, SCHEFFLER E, (1979) Gm in Körperflüssig-
keiten
Krim.forens.Wiss. 35, 47-61

4o. KORSZUN A.K, BRIAN E.C, PATRICK J.L, (1978) Thermostability of ABO(H) Blood-group Antigens in human teeth
Forens.sci. 11, 231-239

41. KRÄMER K, SONDERMEIER D, FLATOW H, (1962) Untersuchungen zur mehrfach behaupteten Nachweisbarkeit der ABO-Gruppensubstanz in menschlichen Zähnen
Z.ärztl.Fortbild. 56, 75o-758

42. KRÄMER K, (1963) Untersuchungen über das Vorkommen von Gm^a-Substanz in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten
Dtsch.Zeitschr.f.gerichtl.Med. 53, 131-141

43. KREHER M, (1937) Unspezifische Absorption durch die Zahnsubstanz
Diss.Halle

44. LOGHEM van E, MÅRTENSSON L, (1967) Genetic (Gm) Determinants of the δ 2c (V_i) Subclass of Human IgG Immunoglobulins
Vox Sang. 13, 369-392

45. LOGHEM van E, NATVIG J.B, (197o) Uncommon Gm Gene Complexes
Vox Sang. 18, 421-434

46. LOGHEM van E, (1971) Genetische Merkmale der Immunglobuline. Allotypen und Allogruppen
3.Tag.Ges.f.for.Blutgruppenmerkmale, 167-175

47. LUFFMAN J.E, HARRIS H, (1967) A comparison of some properties of human red cell acid phosphatase in different phenotypes
Ann. hum. Genet. 3o, 387

48. MENZEL H.J, (1971) Feingewebliche Veränderungen im klinisch als gesund anzusprechenden Zahnmark
Habilitationsschrift Düsseldorf

49. NIELSEN J.C, HENNIGSEN K, (1963) Experimental studies on the determination of the Gm groups in blood stains.
Med.Sci.Law 3, 49-58

5o. OEPEN I, RENNINGER W, HILGERMANN R, HIRSCHHÄUSER C, (1971) Darstellung der sauren Phosphatase an Spermaspuren
Ärztl.Lab.17, 47-54

51. OEPEN I, (1972) Zur Blutgruppenprägung menschlicher Körpergewebe
Habilitationsschrift Marburg

52. OEPEN I, (1973) AB-,Rh-,Gm-,InV- und PGM-Bestimmung an Haut, Muskulatur, Milz und Niere zur Identifizierung von Leichenteilen
Beitr.gerichtl.Med.XXXI, 3oo - 3o6

53. OEPEN I, PETERS B, SALZMANN N, WEHR G, (198o) Zum Typennachweis der (gonadenspezifischen) Diaphorase (DIA_3) an Spermaspuren sowie zum Nachweis von Esterase Typen an Sperma- und Speichelspuren
Z.Rechtsmed. 85, 75-8o

54. PARKIN B.H, ADAMS E.G, (1975) The typing of esterase D in human blood stains
Med.Sci.Law 15, 1o9-113

55. PERLICK E, PLENERT W, PROKOP P, STOBBE H, (1977) Fortschritte der Hämatologie, Band 4 Blutgruppen
J.A.Barth Verl. Leipzig

56. PETERSEN N, (1977) Über den Nachweis genetischer Merkmale in der menschlichen Zahnpulpa
Dissertation, Kiel

57. PILZ W, PLATHER C.H, TAATZ H, (1969) Grundlagen der Kariologie und Endodontie
Hanser Verl. München

58. PILZ W, (1974) Forensische Stomatologie
J.A.Barth Verl. Leipzig

59. PLANQUES I, RUFFIE J, DUCOS J, (1961) Le system Gm en medicine legale
Toulouse Med. 62, 685

6o. PROKOP O, UHLENBRUCK G, (1966) Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen
G.Thieme Verlag, Leipzig

61. PROKOP O, LANDES B, ROSE H, (1971) Über den Nachweis von Gm(a) in Gallensteinen
Krim.forens.Wiss. 5, 87-92

62. PROKOP O, GÖHLER W, (1976) Die menschlichen Blutgruppen, Genetik, in: H.Stubbe
Hrsg. Jena

63. REIMANN W, (1971) Bestimmbarkeit der sauren Phosphatase in Geweben
Krim.forens.Wiss. 4, 131-133

64. ROPARTZ C, ROUSSEAU Py, RIVAT L, (1962) Problèmes poses par l'application des systemes héréditaires de gamma-globulines Gm et InV en médécine légal.
IX.Congr.Soc.Int.Trans. Mexico

65. ROPARTZ C, RIVAT L, LENOIR J, (1961) A new inheritable property of human sera: the InV factor.
Nature, 189, 586

66. SCHLEYER F, OEPEN I, (1977) Leitfaden der gerichtl.-medizinischen Blutgruppenuntersuchung
Schmidt-Römhild, Lübeck

67. SCHWERD , FEHRER H.D, (1979) Nachweis von Gammaglobulin-und InV-Merkmalen in Sperma und Speichel sowie von Haptoglobin im Sperma
Z.Rechtsmed. 83, 185-19o

68. SELTZER S, BENDER I.B, (1975) The Dental Pulp. Biologic Considerations in Dental Procedures
J.B. Lippincott Comp. Philadelphia and Toronto

69. SENSABAUGH G.F, GOLDEN V.L, (1978) Phenotype Dependence in the Inhibition of Red Cell Acid Phosphatase (ACP) by Folates
Am J.Hum.Genet. 3o, 553-56o

7o. SMERLING M, (1978) Sanguine proprio ? über die Blutspurenuntersuchungen an einer von Friedrich Freiherr von der Trenck überlieferten Bibel
Beitr.ger.Med. 36

71. SONNEBORN H.H, (1973) Die Bestimmung der sauren Erythrozytenphosphatase (SEP)- Isoenzyme mit der Celluloseacetatfolien-Elektrophorese
Humangenetik 18, 355

72. SPENCER N, HOPKINSON D.A, HARRIS H, (1964) Quantitative differences and gene dosage in the human red cell acid phosphatase polymorphism.
Nature (Lond.) 2o1, 299

73. SPRINGER G.F, ANSELL N.J, (1958) Inactivation of human erythrocyte agglutinogens M and N influenca viruses and receptor-destroying enzyme
Proc.natn.Acad.Sci. 44, 182-189

74. STEINBERG A, STAUFFER R, (196o) Effect of Heat on the Serum Factors Gm^a, Gm^b, Gm^x and Gm-like
Nature 187, 791

75. STEINBERG A, (1973) Contribution of the Gm and InV allotypes to the characterization of human populations.
Israel J.med.Sci. 9, 1249

76. SWALLOW D.M, HARRIS H, (1972) A new variant of the placental acid phosphatases: its implications regarding their subunit structure and genetical determination
An.hum.Genet. 36, 142

77. TERRY W.B, FAHEY J.L, STEINBERG A.G, (1965) Gm and InV factors in subclasses of human IgG
J.exp.Med. 122: 1o87-11o2

78. TIMPERLEY W.R, BARSON A.J, DAVIES S, (1971) Isoenzyme patterns of non specific esterase and acid phosphatase in the developing brain and a variety of normal tissues
Biol.Neonate, Basel, 19, 459

79. TUROWSKA B, TRELA F, (1977) Studies on the isoenzymes PGM, ADA and AK in human teeth
Forensic Sci. 9, 45-47

8o. ZAJAC P.L, GRUNBAUM B.W, (1978) Problems of reliability in the phenotyping of erythrocyte acid phosphatase in bloodstains
J.forens.Sci. 23, 615-618

Herrn Professor Dr. Heinz Schweitzer möchte ich herzlich für die Überlassung des Themas und die großzügigen Möglichkeiten zur Durchführung dieser Arbeit danken.

Herrn Dr. Jürgen Henke danke ich für seinen kritischen Rat in zahlreichen Gesprächen und für die Durchsicht des Manuskripts.

Schließlich möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin, insbesondere bei Frau Flach, für ihre Unterstürzung bei den praktischen Versuchen bedanken.

Lebenslauf

Am 25. Juni 1950 bin ich in Meinfeld/Oberschlesien als Tochter des Försters Paul Knopp und seiner Ehefrau Hildegard geb. Wollny geboren.

Von 1957 bis 1964 besuchte ich die Volksschule und anschließend das Gymnasium in Gogolin. Dort legte ich am 30.5.1968 meine Reifeprüfung ab.

1971 bin ich im Rahmen der Familienzusammenführung in die Bundesrepublik umgesiedelt.

Nach Anerkennung meiner Hochschulreife habe ich mich 1972 am Dolmetscher Institut der Universität Heidelberg immatrikuliert. Nach vier Semestrn am Dolmetscher Institut erhielt ich für das Wintersemester 1974 einen Studienplatz für Zahnmedizin an der Universität Heidelberg.

1975 habe ich geheiratet und zwei Jahre später meinen Studienort nach Düsseldorf verlegt.

An der Universität Düsseldorf habe ich am 19.5.1980 das Staatsexamen für Zahnmedizin mit der Note "gut" abgelegt.

Seit September 1980 bin ich als Assistent in einer zahnärztlichen Praxis in Moers tätig.